

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 8 月 19 日 (19.08.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/070106 A1

- (51) 国際特許分類: D06M 16/00, 10/02, C12N 9/52, C12S 3/14
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/001291
- (22) 国際出願日: 2004 年 2 月 6 日 (06.02.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2003-029610 2003 年 2 月 6 日 (06.02.2003) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 大和化成株式会社 (DAIWA KASEI K.K.) [JP/JP]; 〒5203203 滋賀県甲賀郡甲西町日枝町 4 番地の 1 9 Shiga (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高岸 徹 (TAKAGISHI, Toru) [JP/JP]; 〒5860042 大阪府河内長野市日東町 2-2-1 Osaka (JP). 清水 保広 (SHIMIZU, Yasuhiro) [JP/JP]; 〒5220051 滋賀県彦根市中藪町 7 4 1-4 3 Shiga (JP).
- (74) 代理人: 三枝 英二, 外 (SAEGUSA, Eiji et al.); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町 1-7-1 北浜 T N K ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NL, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

WO 2004/070106 A1

(54) Title: METHOD OF SHRINK-PROOFING ANIMAL HAIR FIBER

(54) 発明の名称: 獣毛繊維の防縮加工法

(57) Abstract: It is intended to provide a method of shrink-proofing an animal hair fiber characterized by comprising subjecting the animal hair fiber to a pulse corona processing or an oxidation treatment with the use of a chlorine-free oxidizing agent, and then enzymatically treating it with an alkali protease which has an activity of digesting keratin of 70 AKU or higher, a ratio of a collagen digestion activity to the keratin digestion activity of 2 or smaller, and a ratio of an elastin digestion activity to the keratin digestion activity of 4 or smaller. According to this method, a highly shrink-proofing animal hair fiber can be obtained.

(57) 要約: 本発明は、獣毛繊維をパルスコロナ処理するか又は非塩素系酸化剤を用いて酸化処理した後に、更にケラチン分解活性が70AKU以上であり且つケラチン分解活性に対するコラーゲン分解活性比が2以下およびケラチン分解活性に対するエラスチン分解活性比が4以下であるアルカリプロテアーゼを用いて酵素処理することを特徴とする獣毛繊維の防縮加工方法を提供するものであり、該方法によれば、防縮性に優れた獣毛繊維を得ることができる。

明 細 書

獣毛繊維の防縮加工法

技 術 分 野

本発明は、羊毛、カシミア、アルパカ、アンゴラなどの獣毛繊維を含む繊維製品
5 に水洗い洗濯が可能な防縮性を付与する改良された防縮加工方法に関する。

背 景 技 術

羊毛、カシミア、アルパカ、アンゴラなどの獣毛繊維は、優れた吸放湿特性、保
温性、風合い(柔軟な手触り)などを有し、理想的な繊維といわれているが、繊維表
皮に鱗片状のスケールが存在するため、該繊維を用いた織物、編物、不織布などの
10 繊維製品は、洗濯(ドライクリーニングを除く)を繰り返すことによって、複数の繊
維間でスケールの先端突部同士が絡み合い、縮みを生じる。この収縮は、スケール
の表面摩擦係数の異方性に起因するものであり、フェルト収縮と呼ばれ、獣毛独特
の欠点である。

この欠点を解消するための種々の方法が、これまでに開発されている。そのうち
15 の一つは、現在、羊毛防縮加工法の主流となっている塩素化樹脂法(酸化/樹脂防縮
加工法)である。この方法は羊毛表面に存在する疎水性スケールの先端の突出部を塩
素化剤を用いて塩素酸化して削り取り、摩擦係数の異方性を減少させると共に、比
較的親水性である獣毛繊維本体を一部分露出させた後、ウレタン系樹脂などの親水
性樹脂(防縮剤)で該表面を覆う方法である。この方法によれば、防縮剤は繊維表面
20 に強固に結合して、洗濯回数の増加によっても容易に剥離せず、従って製品は優れ
た防縮性を有する。しかしながらこの方法は、塩素化剤の利用を必須とするため、
有害な吸収性有機ハロゲン化合物(AOX)を排出し環境を汚染するという重大な弊
害がある。廃水規制の厳格な西欧では、現在、該方法の工業的实施は困難となりつ
つある。しかも、この塩素化樹脂法は、利用する塩素化剤が繊維の内部にまで侵入
25 して繊維を損傷させたり、重量損失を大きくするなどの欠点がある。また、防縮剤
としての樹脂が繊維表面を被覆するため、得られる繊維は獣毛繊維本来の優れた風
合い(柔軟な手触り)を損ない、硬い感触となる不利がある。更に、繊維に結合した
塩素が経時的に二重結合を生成して繊維を黄変させる、いわゆる「黄変化現象」が
避けられない不利もある。

塩素化剤を利用せず、従って有害物質を排出しない、クリーンな防縮加工方法も知られている。該方法には、プロテアーゼを利用する方法および電子エネルギー（プラズマ）を利用する方法が含まれる。前者は、縮みのもととなるスケール先端突部をプロテアーゼによって分解除去して繊維表面を改質する方法であり、後者は、プラズマ照射によって繊維表面に活性基を導入し、繊維を親水性に改質する方法である。

しかしながら、現在、この種の獣毛繊維の防縮加工方法に、その利用が提案されているプロテアーゼは、いずれも繊維表面を覆っているケラチン質に富むスケールを選択的に分解除去できるものではない。このような酵素を利用して十分な防縮性を得るためには、多量の酵素を用いた長時間の処理が必要となる。しかるに、このような酵素処理では、スケールと共に繊維内部のコルテックス細胞や細胞膜複合体（セルメンブレンコンプレックス、CMC）も酵素により分解され、大きな重量減少および著しい強度低下を招く。この強度低下は致命的な欠点である。このように、従来のプロテアーゼを利用する防縮加工方法は、繊維の強度低下なしに十分な防縮加工を行い得るものではない。

また、プラズマを利用する防縮加工方法は、疎水性のスケール表面を親水性に改質するものにすぎない。縮みの原因であるスケール表面の摩擦係数の異方性を減少させるものではない。該方法のみで十分な防縮性を付与することは不可能である。該プラズマを利用する獣毛繊維製品の防縮加工処理は、一般には、前述した防縮剤（親水性樹脂）による繊維表面の被覆処理、酵素処理などとの併用が推奨されている。より詳しくは、低温プラズマ処理後、樹脂加工し、更にプロテアーゼを利用して失われた風合いを改善する方法（例えば、特許第2905311号参照）、及び低温プラズマ処理とプロテアーゼ処理とを組合せる方法（例えば、特表平10-511437号公報参照）が報告されている。

しかしながら、これらの方法によっても尚満足できる防縮性、強度および風合を有する繊維製品は得られない。即ち、防縮剤を用いた樹脂加工処理法は、本質的に獣毛繊維本来の柔軟な風合いをマスクする不利があり、酵素処理法は、スケールに選択的に作用する酵素が現在尚開発されていないために、繊維自体の強度低下を惹起するという致命的な不利がある。これらを併用する方法は、それぞれの処理法の欠点を許容できる範囲に少なくして、防縮性、風合いおよび強度を、それぞれ折り

合いがつく範囲で満足させるものでしかない。しかも、これらの方法において併用される低温プラズマ処理は、減圧下での作業を要し、装置的にも、コスト的および時間的にも、実用面で不利があり、更に、連続処理が困難である欠点もある。

最近になって、常圧下でのパルス放電プラズマ処理(パルスコロナ処理)とウレタン系樹脂を利用する樹脂加工処理とを併用した獣毛繊維製品の防縮加工方法が提案された(特開平11-131365号公報参照)。しかしながら、この方法も、防縮樹脂を利用することに基づく前述した欠点、即ち、十分な防縮性を付与するためには、繊維の風合いが損なわれる不利は避けられないものである。

以上のように、塩素化剤などの利用による環境汚染問題を伴うことなく、獣毛繊維を防縮加工する方法は、防縮性と風合いとの相反する要求、また防縮性と強度との相反する要求を、同時に満足できるものではなく、これらの要求を全て満足する、新たな獣毛繊維の防縮加工技術が、当業界で切望されている。

発 明 の 開 示

本発明の目的は、上記要望に合致する獣毛繊維の防縮加工技術、即ち、塩素系薬剤などの環境汚染の問題を伴う薬剤を使用せずに、水洗い洗濯によっても縮まない防縮性を付与することができ、しかも、この防縮加工によって獣毛繊維本来の風合いを損なわず、強度低下も実質的に伴わない、改良された獣毛繊維の防縮加工技術を提供することにある。

本発明者は、鋭意研究の結果、獣毛繊維表面のスケール部分に選択的に作用してこれを分解するが、繊維本体であるセルメンブレンコンプレックス(CMC、細胞膜複合体)層には実質的に悪影響を及ぼさない理想的な防縮加工用酵素ともいふべきアルカリプロテアーゼを見出すと共に、この特定酵素による防縮加工処理に先だって、パルスコロナ処理又は非塩素系酸化剤による酸化処理を行うときには、前記目的に合致する新しい獣毛繊維の防縮加工技術が提供できることを見出した。本発明はこの知見を基礎として完成されたものである。本発明は、以下の項1～12に記載の発明を提供する。

項1. 獣毛繊維の防縮加工方法であって、獣毛繊維をパルスコロナ処理するか又は非塩素系酸化剤を用いて酸化処理した後、ケラチン分解活性が70AKU以上であり且つケラチン分解活性に対するコラーゲン分解活性比が2以下およびケラチン分

解活性に対するエラスチン分解活性比が4以下であるアルカリプロテアーゼを用いた酵素処理を行うことを特徴とする獣毛繊維の防縮加工方法。

項2. 獣毛繊維をパルスコロナ処理した後、アルカリプロテアーゼを用いた酵素処理を行う請求項1に記載の獣毛繊維の防縮加工方法。

- 5 項3. パルスコロナ処理が、常温下に、平均電解強度6～100kv/cm、パルス頻度10pps以上およびパルス幅0.1 μ s以上の条件で行われる項1又は2に記載の防縮加工方法。

項4. 獣毛繊維を非塩素系酸化剤による酸化処理した後、アルカリプロテアーゼを用いた酵素処理を行う請求項1に記載の獣毛繊維の防縮加工方法。

- 10 項5. 非塩素系酸化剤が過酸化水素、過硫酸及びその塩並びにジクロロイソシアヌル酸塩からなる群から選ばれる少なくとも1種である請求項1又は3に記載の方法。

項6. 非塩素系酸化剤による酸化処理が、繊維1g当たり酸化剤2～4gを用いて、浴比1:15～25、温度30～60℃、pH4.0～4.5および時間1～8時間の条件で行われる請求項5に記載の方法。

- 15 項7. アルカリプロテアーゼが、放線菌由来のものである項1～6のいずれかに記載の防縮加工方法。

項8. アルカリプロテアーゼが、ノカルディオプシス エスピー (Nocardiosis sp.) TOA-1株 (FERM BP-08603) の産生するものである項1～6のいずれかに記載の防縮加工方法。

- 20 項9. アルカリプロテアーゼとの接触が、繊維1g当たり酵素力価300～1000 APUのアルカリプロテアーゼを用いて、浴比1:15～25、温度30～60℃、pH7～9.5および時間2～8時間の条件で行われる項1～8のいずれかに記載の防縮加工方法。

- 25 項10. 項1～3のいずれかに記載の獣毛繊維の防縮加工方法に利用されるアルカリプロテアーゼであって、ケラチン分解活性が70AKU以上であり且つケラチン分解活性に対するコラーゲン分解活性比が2以下およびケラチン分解活性に対するエラスチン分解活性比が4以下であるアルカリプロテアーゼ。

項11. ノカルディオプシス エスピー (Nocardiosis sp.) TOA-1株 (FERM P-18676) の産生するものである項10に記載のアルカリプロテアーゼ。

項12. 項1～9のいずれかに記載の方法によって得られる防縮加工された獣毛繊維。

以下、本発明獣毛繊維の防縮加工方法を詳述する。

(1) 獣毛繊維

本発明方法の適用される獣毛繊維には、従来公知の各種の獣毛繊維、例えば、羊毛、カシミア、アルパカ、アンゴラなどが含まれる。また本発明方法の適用される
5 獣毛繊維は、上記獣毛繊維自体は勿論のこと、該獣毛繊維を紡績した獣毛糸条、該獣毛糸条を製編織してなる獣毛編織物、上記獣毛繊維を集積してなる獣毛不織布などの獣毛繊維製品の形態であってもよい。本発明方法は、これを獣毛繊維製品に適用することによって該製品中の獣毛繊維を防縮加工することができ、かくして防縮加工された獣毛繊維製品を得ることができる。更に、これらの獣毛糸条、獣毛編織
10 物、獣毛不織布などの繊維製品は、獣毛繊維のみから構成されている必要はなく、獣毛繊維と他種繊維とが混合されたものであってもよい。この他種繊維は何ら限定されない。代表例としては、セルロース繊維、アクリル繊維、ポリエステル繊維、ポリアミド繊維などを挙げることができる。他種繊維の混合割合は、特に限定されず、どのような割合であっても、本発明方法によって、該混合物中の獣毛繊維の防
15 縮加工が行い得る。防縮加工を要望される獣毛繊維の混合割合は、製品全重量の少なくとも5重量%であればよい。具体的には、例えば羊毛繊維15重量%、アクリル繊維83重量%およびスパンデックス2重量%からなる野球帽子などや、羊毛繊維5重量%、ナイロン繊維15重量%およびアクリル繊維80重量%からなるニット製品などを本発明に従う防縮加工法の対象とすることができる。

20 (2) パルスコロナ処理

本発明に従う獣毛繊維のパルスコロナ処理は、従来公知の方法、例えば前述した特開平11-131365号公報に記載の方法に準じて、獣毛繊維に常圧下にパルス高電圧を印加することにより実施される。即ち、放電電極と対向電極との間に獣毛繊維を通過させつつ、両電極間に一定の電圧をパルス状で印加することにより実施される。
25 両電極間の距離は、獣毛繊維が通過しうる範囲であればよく、具体的には1~40cm程度である。両電極間に印加される電圧は、平均電解強度(両電極間に印加される電圧の平均値を両電極間距離で除したもの)が6~100kv/cm程度、より好ましくは7~50kv/cm程度の範囲となるものとするのがよく、このような電圧の採用によって、所望のパルスコロナ処理を行い得る。

また、パルス高電圧は、所定の電圧が、所定の時間間隔において、非連続的に印加されるものとする。ここで、印加するパルス高電圧のパルス頻度(一秒あたりに発生するパルス数)は、一般には10pps以上、特に50~100ppsの範囲であるのが好ましい。パルス幅(一個のパルスが発生している時間)は、一般的に約0.1 μ s以上、特に約0.5~10 μ sの範囲であるのが好ましい。

パルスコロナ処理は、常圧下で行われることが重要であり、これによって、獣毛繊維に連続して、効率よく、パルス高電圧を印加することができる。また、常圧下でのパルス高電圧の印加により、大気中の酸素が活性化し、活性化した酸素や電子が存在するプラズマ状態を生じさせ得る。これらの酸素や電子が獣毛繊維に衝突して、獣毛繊維表面にカルボキシル基や水酸基などの活性基を導入させ得る。

上記パルスコロナ処理によって、獣毛繊維表面は、均一に親水性となる。

(3) 酸化剤処理

本発明に従う獣毛繊維の酸化処理は、非塩素系の酸化剤を利用して実施される。該非塩素系酸化剤には、例えば過酸化水素、過硫酸、過硫酸塩、例えば過硫酸カリウム、過硫酸水素カリウムなどのモノ過硫酸アルカリ金属塩およびジ過硫酸アルカリ金属塩、ジクロロイソシアヌル酸ナトリウムなどのジクロロイソシアヌル酸塩、モノペルオキシフタル酸などが含まれる。これらはその一種を単独で用いることもでき、また二種以上を併用することもできる。これらのうちで特に好ましい酸化剤は過硫酸及びその塩類である。該酸化剤の具体例としては、デュポン社より市販されている「モノ過硫酸水素カリウム」を挙げることができる。このものはモノ過硫酸水素カリウムを主成分とし、このものと過硫酸カリウムとの混合物である。

非塩素系酸化剤は、塩素系酸化剤とは異なって、環境汚染の要因となるAOXの生成を伴わない利点がある。また、この酸化剤による処理は、引き続くアルカリプロテアーゼによる酵素処理と同様に、ウェット法に従って実施できるため、両処理工程をより容易に組み合わせ得る利点がある。

獣毛繊維の酸化処理は、例えば酸化剤を含有する液中に非処理繊維を浸漬するか、被処理繊維に酸化剤を含有する液を塗布、噴霧などにより施行することにより実施される。

酸化処理は、この酸化処理によって得られる繊維を引き続き酵素処理する際、該

繊維が、特にそのスケール表面が、酵素処理に適した親水性となることを目的としている。該酸化処理の条件(浴比、温度、時間、液pHなど)は、引き続き酵素処理によって所望の防縮加工された繊維が得られるように適宜決定することができる。この条件は、利用する酸化剤の種類、被処理繊維の種類などに応じて適当に決定することができる。好ましくは、酸化剤量2~4g/L、浴比1:15~25、温度30~60℃、時間1~8時間、液pH4.0~4.5程度の条件を採用することができる。

上記酸化処理後、得られる獣毛繊維は、直接に又は適宜水洗などを行って、酵素処理に供することができる。また、必要に応じて、通常の還元剤を用いた還元処理を行うこともできる。

10 (4) 酵素処理

本発明方法においては、前記(2)又は(3)で処理された獣毛繊維を次いで酵素処理する。該酵素処理は、特定のプロテアーゼを接触、作用させることにより行われる。該プロテアーゼは、ケラチン分解活性が70AKU以上であり且つケラチン分解活性に対するコラーゲン分解活性比が2以下およびケラチン分解活性に対するエラスチン分解活性比が4以下であるアルカリプロテアーゼであることが重要である。特に、ケラチン分解活性が120AKU以上のものが好ましい。該アルカリプロテアーゼの代表例としては、後記(5)に示すアルカリプロテアーゼを挙げることができる。

ここで、ケラチン分解活性(AKU)は、次に示す測定法により測定される。即ち、シグマ社製のKeratin Azureを細かく粉砕したもの0.04 gを含む100mmol/Lホウ砂-炭酸ナトリウム緩衝液(pH10.5)3 mLにカゼイン分解活性25APU/mLに調製した酵素溶液1mLを混合し、35℃で60分間緩速攪拌反応させた後、分解に伴って遊離する色素を吸光度595nmで測定する。1AKUは、上記反応条件下において、1時間に吸光度595nmを0.001増加させる酵素量とする。

なお、上記において酵素溶液のカゼイン分解活性(APU/mL)は、次に示す測定法により測定される。即ち、ハマルステンの乳製カゼイン1%を含む100mmol/Lホウ砂-炭酸ナトリウム緩衝液(pH10.5)1mLを酵素溶液1mLと混合し、35℃で10分間反応させた後、7.2%トリクロロ酢酸溶液2mLを加えて反応を停止させ、35℃で20分間放置し、次に濾紙(ADVANTEC、No.6、TOYO社製)で濾過し、濾液中の蛋白分解物をフォリン法により測定する。1APUは、上記測定法において、1分間に1μg

のチロシンを遊離する酵素量とする。

また、上記ケラチン分解活性に対する相対比で示されるコラーゲン分解活性 (ACU/mL) およびエラスチン分解活性 (AEU/mL) は、それぞれ以下の測定法により 求められる。即ち、コラーゲンType I (シグマ社製) またはエラスチン (シグマ社製) 5 を2%含む100mmol/Lホウ砂-炭酸ナトリウム緩衝液 (pH10.5) 1mLにカゼイン分解活 性50APU/mLに調製した酵素溶液1mLを混合し、35℃で2時間緩速攪拌反応させた 後、7.2%トリクロル酢酸溶液2mLを加えて反応を停止させ、35℃で20分間放置す る。次に、濾紙 (ADVANTEC、No.6、TOYO社製) で濾過し、濾液中の蛋白分解物 をフォリン法により測定し、660nmにおける吸光度の増加量を求める (反応0時間 10 の660nm測定値を基準としてそれに対する増加量を算出する)。1ACUおよび1AEU は、上記測定法において、1時間に吸光度660nmを0.001増加させる酵素量とする。

上記ケラチン分解活性を基準としてその相対比で示されるコラーゲン分解活性お よびエラスチン分解活性は、本酵素のケラチンに対する特異性乃至選択性を示すも のである。即ち、これらコラーゲン分解活性およびエラスチン分解活性相対比が小 さい程、該酵素はコラーゲンおよびエラスチンへの作用が小さく、従ってケラチン 15 に特異的であることを示す。

かかる特性を有する酵素、即ち、特定のケラチン分解活性と、該ケラチン分解活 性に対する特定のコラーゲン分解活性比およびエラスチン分解活性比を満たす酵素 は、その利用によって、本発明所期の優れた獣毛防縮処理効果を奏し得る。その理 20 由は、次のように考えられる。即ち、獣毛繊維表面は、ケラチンに覆われており疎 水性であるが、本発明方法に従う前処理、即ちパルスコロナ処理又は酸化剤処理に よって極性を付与される (親水化)。該獣毛繊維を次いで本発明に従い酵素処理する ときには、上記で親水化された繊維表面全体に均一に酵素が作用し得ると共に、該 酵素は、高いケラチン特異性およびケラチン分解活性を有することに基づいて、繊 25 維表面のスケール層に選択的に作用してこれを分解消失させるが、CMC層には殆 ど作用せず、かくして、強度低下、風合い低下などを実質的に引き起こすことなく 優れた防縮性を付与できるものと考えられる。

本発明に従うアルカリプロテアーゼによる酵素処理 (接触) は、一般に、水性液剤 形態の上記酵素液を利用して、その中に被処理繊維を浸漬するか、被処理繊維に酵

素液を塗布、噴霧などにより施行することにより実施される。酵素液における酵素の濃度は、特に限定されるものではなく、被処理繊維の種類、採用されたパルスコロナ処理条件、酵素処理の方法、条件などに応じて適宜決定することができる。通常、酵素は10-80APU/mL、好ましくは20-40APU/mLの濃度の溶液形態で、獣毛繊維重量1gに対して約100-2400APU程度、好ましくは約300-1000APU程度の力価となる量で用いられるのがよい。

また、酵素液には、必要に応じてpH調整剤としての水酸化カルシウム、緩衝剤としてのホウ酸などの他、この種の酵素処理液に添加配合されることの知られている界面活性剤などを適宜添加配合することができる。該界面活性剤としては、例えば、薬品浸透促進効果のある界面活性剤や脱脂効果のある界面活性剤など、具体的には「スプラランUF」(Zschimmer & Schwarz社製)などを挙げることができる。また該界面活性剤には、防腐効果をも奏し得る界面活性、具体的には「シスモランBH」(Bayer社製)なども含まれる。これらの界面活性剤などの添加配合量は、通常それらが用いられる量と特に異ならない。本発明では、浸透剤としての界面活性剤の利用は不必要であるが、勿論、使用することを妨げるものではない。

酵素処理の条件は、例えば浸漬法の場合を例にとれば、浴比1:10-30程度、好ましくは1:15-25程度、温度30-60℃程度、好ましくは40-50℃程度、pH7-9.5程度、好ましくは8.5-9程度および時間0.5-8時間、好ましくは2-8時間、より好ましくは1-2時間の条件で行い得る。酵素反応の停止は、常法に従い、例えば約90℃で10分間程度加熱することにより行い得る。反応終了後は、流水で十分に洗浄し、乾燥することによって、本発明所望の防縮加工処理された獣毛繊維を収得できる。

(5) アルカリプロテアーゼ

本発明防縮加工方法に好適なアルカリプロテアーゼとしては、放線菌起源のものを挙げることができる。その代表例としては、本発明者らが見出した好アルカリ性ノカルディオプシス エスピー TOA-1株の産生するもの(特願2002-161099)を挙げることができる。以下、このTOA-1株の産生するアルカリプロテアーゼを「本酵素」ともいう。

該TOA-1株は、日本国茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6の独立行政法人

産業技術総合研究所 特許微生物寄託センターに、平成14年1月16日に、
Nocardiopsis sp. TOA-1なる表示で寄託されており、その寄託番号はFERM
P-18676である。このものは平成16年1月29日に国際寄託されており、その寄託番
号はFERM BP-08603 である。

- 5 上記菌の培養および本酵素の採取は、常法に従い実施することができる。例えば
該菌は好アルカリ性放線菌であるため、その培養は通常の培地に適当なアルカリを
添加したアルカリ域で行われる。培地に用いられる炭素源、窒素源、他の無機塩な
どの栄養源は、この種の酵素生産菌の培養に用いられる通常のものでよい。例えば
炭素源としては、グルコース、可溶性デンプン、セルロースなどを例示できる。窒
10 素源としては、硝酸塩、アンモニウム塩などの無機物、尿素、ペプトン、乾燥酵母、
酵母エキス、スキムミルク、大豆粉、コーンスチープリカー、カゼイン、肉エキス、
アミノ酸などを例示できる。他の無機塩としては、マグネシウム塩、カリウム塩、
ナトリウム塩、リン酸塩などを例示できる。これらの栄養源は、それぞれに属する
ものを1種単独で用いてもよく、また2種以上併用することもできる。それらの組
15 合せも任意である。培地に添加されるアルカリとしては、例えば0.5-2%程度の濃
度の炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウムなどの炭酸塩の水溶液、水酸化ナトリウ
ム水溶液、アンモニア水などを例示できる。培地のpHは、通常8-11程度とするの
が好ましい。培養は、20-40℃程度、好ましくは30-35℃程度の温度下に、2-7日間、
好氣的に、攪拌または振盪しながら行うことができる。所望の酵素は、主として培
20 養液中に分泌、蓄積される。

- 本酵素の培養液からの採取・精製は、該酵素の理化学的性質などを利用した既知
の方法に従い実施できる。本酵素は、主として菌体外(培養液中)に分泌されるため、
例えば濾過、遠心分離などの操作により菌体を除去して粗酵素液を得ることができ
る。該粗酵素液は更に常法に従い、例えば硫酸などを用いて塩析させる方法；メタ
25 ノール、エタノール、アセトンなどの有機溶媒を用いて沈殿させる方法；ケラチン
などを用いて吸着させる方法；限外濾過法；ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン
交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィーなどの各種クロマトグラフィ
ー法などにより精製することができる。これらの精製操作は単独で利用することも
でき、また併用することもできる。

特に好ましい精製方法の一つとしては、まず培養濾液に80%飽和硫酸を添加して塩析を行い、得られた沈殿を緩衝液に溶解し、次いで例えばCM-Toyopearl 650M (東ソー社製)、DEAE-Toyopearl 650M (同社製)などによるイオン交換クロマトグラフィーを行う方法を例示できる。この方法により、SDS電気泳動的に均一な精製酵素を得ることができる。

かくして得られる酵素は、次の性質を有している。

(1) 作用および基質特異性

蛋白質およびペプチドに作用し、ペプチド結合をエンド型の機作により切断して低分子量オリゴペプチドおよびアミノ酸を生成する。また、ケラチンなどの不溶性蛋白質に対しても強力な活性を示す。

(2) 最適pHおよび安定pH

緩衝液としてHCl/KCl (pH1.0-1.5)、グリシン/NaCl/HCl (pH2.0-3.0)、酢酸 (pH4.0-5.0)、リン酸 (pH6.0-7.0)、トリス塩酸 (pH7.0-9.0)、グリシン/NaCl/NaOH (pH9.0-12.0) およびKCl/NaOH (pH12.0-13.0) を使用して、前記した活性測定法に準じて求めた活性測定結果から、本酵素の最適pHは、30℃において、カゼインを基質とした場合11.0-11.5であり、ケラチンを基質とした場合12.0以上である。

同様に、本酵素を各pHの緩衝液中に30℃で24時間保持した後、その残存プロテアーゼ活性を測定することにより求めた本酵素の安定pH域は、1.5-12.0の広範囲に亘ることが確認される。

(3) 最適温度および安定温度

本酵素の最適温度は、カゼインを基質とした場合は70-75℃であり、ケラチンを基質とした場合は65-70℃である。また、本酵素を100 mmol/L トリス塩酸緩衝液 (pH7.0) に添加し、40-80℃の温度範囲で10分間保持した後、その残存プロテアーゼ活性を測定した結果、本酵素は60℃までは安定であることがわかる。なお、本酵素の温度安定性に関しては、カルシウム添加(10mM)の効果は認められない。

(4) 分子量

本酵素の分子量をSDS電気泳動法により測定した。その結果、分子量は約20,000であった。なお、後述する配列番号：2に記載のアミノ酸配列から算出した

分子量は、19,150である。

(5) 等電点

本酵素の等電点を等電点電気泳動法により測定した。その結果、等電点は10.0以上であった。

5 (6) 阻害

一般的な酵素阻害剤であるPMSF(フェニルメタンスルフォニルフルオリド)、EDTA(エチレンジアミン四酢酸)およびSSI(ストレプトマイセス ズブチリシン インヒビター)のそれぞれを所定濃度となるように50mmol/Lトリス塩酸緩衝液(pH9.0)に溶解し、本酵素を添加後30℃で30分間処理し、次いで、処理溶液より一
10 定量を分取してその残存活性を測定した。その結果、本酵素はPMSFおよびSSIにより阻害され、EDTAによる阻害を受けなかった。このことから、本酵素はセリンプロテアーゼであることが判明した。

(7) アミノ末端配列

本酵素のアミノ末端から25番目までの配列を、気相プロテインシーケンサー
15 (島津製作所製、PPSQ-21)を用いて決定した。その結果、配列番号：2の1-25番目の配列が確認された。

(8) 塩基配列およびアミノ酸配列

本酵素の遺伝子およびアミノ酸の配列を、常法(例えば、J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis: Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2nd. ed. Cold Spring
20 Harbor Laboratory Press, 1989など参照)に従い、使用機器、試薬キットなどのプロトコルに従い決定した。まず、精製酵素を尿素処理後、リシルエンドペプチダーゼ(和光純薬)により分解し、得られた断片のアミノ酸配列を気相プロテインシーケンサーで決定した。かくして得られたアミノ酸配列情報より、適当な2種のオリゴヌクレオチドプライマーをホスホアミダイト法により合成し、このプライマーを
25 用いて、PCR(Biometra社製、T-Gradient Thermoblock 050-801)に従い遺伝子の増幅を行った。その結果、0.5kbp前後に特異的な増幅断片を認めた。この断片をプローブとして、本菌株TOA-1のゲノムライブラリーより、本酵素をコードする完全長の遺伝子をスクリーニングした。得られたクローンの塩基配列をジデオキシ法(F. Sanger et. al., Proc. Natl. Acad. Sci., 74, 5463-5467, 1977)を原理とするDNAシー

クエンサー (LICOR社製、LICOR-4000)により決定した。その塩基配列 (564bp)を配列番号：1に示す。また、該塩基配列をもとにして決定されたアミノ酸配列 (188アミノ酸)を配列番号：2に示す。

(9) ケラチン特異性

- 5 本酵素は、特に優れたケラチン特異性を有している。例えば、本酵素と市販の代表的アルカリプロテアーゼ (製品AおよびBとする)とのケラチン分解活性、コラーゲン分解活性およびエラスチン分解活性を対比した結果を表1に示す。また、ケラチン分解活性を基準としてコラーゲン分解活性およびエラスチン分解活性の相対活性比を求めた結果を表2に示す。

10 表 1

	ケラチン分解活性 (AKU)	コラーゲン分解活性 (ACU)	エラスチン分解活性 (AEU)
本酵素	120	129	175
製品A	60	146	289
製品B	20	42	180

表 2

酵素活性比	コラーゲン／ケラチン	エラスチン／ケラチン
本酵素	1.1	1.5
製品A	2.4	4.8
製品B	2.1	9.1

- 25 これらの表に示される結果から、本酵素は市販酵素である製品AおよびBと比較して、ケラチン分解活性が2倍以上高く、コラーゲン分解活性およびエラスチン分解活性は低く、ケラチンに対する特異性の高いことがわかる。従って、本酵素は市販酵素に比して、コラーゲンおよびエラスチンへの作用が少なく、獣毛繊維製品の処理に際して繊維内部のコルテックス細胞や細胞質複合体の分解が小さく、重量減少や強度低下を招くおそれが非常に少ないことが明らかである。

発 明 の 効 果

本発明は、パルス高電圧印加によるパルスコロナ処理又は非塩素系酸化剤による酸化処理と、ケラチン特異性の高いプロテアーゼによる酵素処理とを組み合わせ、ハロゲンフリーのプロセスを提供するものであり、きわめてクリーンで環境への負
5 荷が少なく、実用性に優れたものである。

本発明により得られる獣毛繊維からなる製品は、機械的強度などの特性は失うことなく、十分に防縮加工された品質の良好なものであり、家庭の洗濯機で洗濯可能であり、ドライクリーニングの必要はない。しかも、この製品は獣毛繊維本来の柔軟な手触りを保有しており、その風合いが非常に優れたものである。

10 また、本発明方法は、環境に有害な化合物を排出するおそれはなく、減圧下での作業も必要なく、作業、装置、コストおよび製造時間の面でも実用的に優れたものである。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明に利用するアルカリプロテアーゼの製造例を参考例として示し、次
15 いで本発明防縮加工方法の実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明する。

尚、実施例において求められた試料の面積収縮率、強伸度および重量減少率は、以下の測定法および算出法に従うものである。

(1) 試料の面積収縮率

IWS (国際羊毛事務局) の試験規格TM185に準拠し、リン酸ナトリウム緩衝液
20 (pH7) を用い、キューベックス試験機 (FLOATAIRE社製) を使用して、3時間の収縮試験を行い、収縮試験前後での試料の縦及び横の平均長さを乗じて、面積収縮率を算出した。

(2) 試料の強伸度試験

縦糸および横糸の各々20点について最大引張強度(N) を(株)島津製作所製オート
25 グラフを用いて測定した。

(3) 試料の重量減少率

防縮処理前後での100℃、1.5時間乾燥後の重量変化を測定した。

参考例1 粗酵素標品の調製

ノカルディオプシス エスピーTOA-1株 (FERM BP-08603) の前培養液を、スキ

ムミルク0.5%、酵母エキス0.1%および別殺菌して添加した炭酸ナトリウム1.0%を含む培地(pH10.5)4000 mLを入れた小型ジャーファーマンターに植菌し、30℃、通気量1v/v/分、200回転/分で3日間培養した。培養終了後、培養液を8,000回転/分で10分間遠心分離して菌体を除去した。

- 5 上記により45APU/mLの粗酵素液約3,800mLを得た。この粗酵素液に硫酸粉末を80%飽和になるまで加え、一昼夜5℃で暗所に静置後、生じた沈殿を8,000回転/分で遠心分離して回収し、凍結乾燥した。上記により、15,100APU/gの粗酵素標品を8.9g得た。

- このもののケラチン分解活性は、72,500AKU/gであり、コラーゲン分解活性は、
10 77,900ACU/gであり、エラスチン分解活性は、106,000AEU/gであった。これらのことから、本酵素のケラチン分解活性に対するコラーゲン分解活性比は1.08、エラスチン分解活性比は1.46と算出される。

実施例1

- 試料としてJIS L 0803規定の羊毛添付白布を準備した。この試料に、日本ペイン
15 ト株式会社製常圧プラズマ処理装置「プラズマアトム」を用いて、相対湿度30-40%、室温の雰囲気下でパルス高電圧印加によるパルスコロナ処理を施した。パルス高電圧印加は、電極間距離23.5mm、平均電界強度32.3kv/cm、電源出力76kv、パルス頻度120ppsおよびパルス幅2.5 μ sの条件で試料を760mm/分で搬送しながら行い、20回繰返した。

- 20 次に、パルスコロナ処理した試料を0.1mol/Lトリス-HCl緩衝液(pH9.0)、浴比1:20、50℃およびpH9.0の条件下で、本酵素2g/L、3g/Lまたは4g/L(300AKU/mL、450AKU/mLまたは600AKU/mLに相当する)で2, 4, 6または8時間それぞれ接触処理して酵素処理を行った。

- 得られた本発明酵素処理布の性質を、上記で試料として用いた未処理布(パルスコ
25 ロナ処理も酵素処理も行っていない羊毛添付白布)およびパルスコロナ処理のみを行った羊毛添付白布と比較して表3(面積収縮率の結果)および表4(強伸度試験結果)に示す。

表 3

5

10

	面積収縮率(%)
未 処 理 布	41
パルスコロナ処理のみ	19
本発明(パルスコロナ+酵素)処理	
酵素処理条件：酵素2g/L×6hr	3.66
酵素2g/L×8hr	1.42
酵素3g/L×4hr	4.74
酵素3g/L×6hr	3.02
酵素3g/L×8hr	0.10
酵素4g/L×3hr	3.01
酵素4g/L×6hr	2.04

15 表 4

20

25

		強伸度 (引張強度, N)		
		縦 糸	横 糸	平 均
未 処 理 布		1.47	0.92	1.20
パルスコロナ処理のみ		1.47	0.92	1.20
本発明(パルスコロナ+酵素)処理				
酵素処理条件：酵素2g/L×6hr		1.27	0.89	1.08
08603	酵素2g/L×8hr	1.18	0.86	1.02
08603	酵素3g/L×4hr	1.28	0.86	1.07
08603	酵素3g/L×6hr	1.26	0.79	1.03
08603	酵素3g/L×8hr	1.16	0.73	0.94
08603	酵素4g/L×3hr	1.29	0.89	1.09
08603	酵素4g/L×6hr	1.19	0.76	0.98

各表に示す結果から、本発明方法によれば、酵素の使用量および処理時間を適宜決定することにより、面積収縮率5%以下で強度低下が実質的になく、重量減少率も3%以下の、優れた防縮加工製品を収得できることが判った。しかも、本発明によれば、未処理布と差のない優れた風合いを有する防縮加工製品が得られることが
5 明らかとなった。本発明防縮加工製品は、ソフトで柔らかく白くなっており、染色性の向上も認められた。

また、得られた本発明処理布、未処理布およびパルスコロナ処理のみを行った対照布における羊毛繊維の形状を電子顕微鏡にて観察した。その結果、未処理羊毛布では、羊毛繊維のスケールが明瞭に観察されたのに対して、パルスコロナ処理のみ
10 を行った処理布では、スケールが削られたような状態で丸みを帯びている様子が観察され、本発明処理布(収縮率0%)では、スケールがさらに丸みを帯びている様子が明らかとなった

比較例1

実施例1と同様にしてパルスコロナ処理した試料に、市販のアルカリプロテアーゼ酵素製品(製品AおよびB、前記表1および2に示すケラチン分解活性、コラーゲン分解活性比およびエラスチン分解活性を有するもの)を作用させて、比較処理布を得た。
15

市販酵素製品AおよびBを用いた酵素処理は、浴比1:20、50℃、Britton-Robinson広域緩衝液(pH8.0)を用い、非イオン性界面活性剤「スコアロール100」(北広ケミカル株式会社製繊維加工用薬剤)2g/L中で行った。酵素製品Aの場合は、力価
20 2335APU/mLで16時間処理した。また酵素製品Bの場合は、力価428APU/mLで16時間処理した。

得られた比較処理布の性質を、未処理布および本発明処理布と比較して表5に示す。

25 尚、市販酵素製品の力価および処理時間を実施例1と一致させて行った比較試験では、得られる処理布の収縮率は5%を遙かに越えるものとなり、所望の防縮加工はできなかった。

表 5

	未 処 理	プラズマ 処理のみ	プラズマ処理＋酵素処理		
			本酵素 2g/L×6hr	製品A 2335APU/mL ×16hr	製品B 428APU/mL ×16hr
収縮率(%)	38	20	3.66	5	5
強 度(N)	1.2	1.2	1.1	0.5	0.5
重量減少率 (%)	0	0	3	13	18

表5に示す結果から次のことが明らかである。本発明方法では、本酵素を2g/L用いて6時間処理することにより、収縮率3.66%を達成できたのに対し、製品Aでは2,335APU/mLで16時間、製品Bでは428APU/mLで16時間の処理によって、収縮率5%が達成できるにすぎなかった。また、本酵素を利用した本発明方法では、強度低下は未処理とほぼ同様であったのに対し、製品AおよびBを用いた場合は、それぞれ0.5Nまで強度が低下(約58%の強度低下が認められる)し、重量減少率も各々13%および18%と著しく、生地はボロボロの状態となることが明らかとなった。

本発明方法に採用するパルスコロナ処理は、それ自体温度上昇しないために羊毛繊維の風合いを低下させるおそれのないものであり、しかも本発明方法では引き続き酵素処理によって風合いがより柔らかくなっていた。従って、本発明方法では、当然ながら柔軟剤などの利用は不必要である。また、本発明方法では従来法において採用される如き酸化剤処理をしていないので、処理布は耐黄変性があり、染色性も向上している。さらに、本発明方法では、促進剤としての非イオン性界面活性剤の使用も必要がなく、これは廃液処理の観点からも優れた方法であるといえることができる。

実施例2

試料としてJIS L 0803規定の羊毛添付白布を準備した。この試料を、モノ過硫酸水素カリウム(DuPont社製「Oxone™」)2gを水1Lに溶解した液(pH4.0)中に、浴比

1:20、50℃の条件で30分間浸漬して酸化剤処理を行った。

次に、酸化剤処理した試料を0.1mol/Lトリス-HCl緩衝液 (pH9.0)、浴比1:20、50℃およびpH9.0の条件下で、本酵素2g/Lまたは3g/L (300AKU/mLまたは450AKU/mLに相当する)で2, 3, 4または6時間それぞれ接触処理して酵素処理を行った。

- 5 得られた本発明酵素処理布の性質を、上記で試料として用いた未処理布 (酸化剤処理も酵素処理も行っていない羊毛添付白布) および酸化剤処理のみを行った羊毛添付白布と比較して表6 (面積収縮率の結果) および表7 (強伸度試験結果) に示す。

表 6

10		面積収縮率 (%)
	未 処 理 布	39.7
	酸化剤処理のみ	19.6
	本発明 (酸化剤 + 酵素) 処理	
	酸化剤処理条件 + 酵素処理条件:	
15	酸化剤処理30分 + 酵素2g/L × 2hr	3.82
	酸化剤処理30分 + 酵素2g/L × 4hr	1.91
	酸化剤処理30分 + 酵素2g/L × 6hr	0.77
	酸化剤処理30分 + 酵素3g/L × 3hr	1.12
	酸化剤処理30分 + 酵素3g/L × 4hr	-0.21

表 7

		強伸度 (引張強度, N)		
		縦 糸	横 糸	平 均
5	未 処 理 布	1.29	0.91	1.10
	酸化剤処理 (30分) のみ	1.47	0.92	1.20
10	本発明 (酸化剤+酵素) 処理 酸化剤処理条件+酵素処理条件 :			
	酸化剤処理30分+酵素2g/L×2hr	1.10	0.61	0.86
	酸化剤処理30分+酵素2g/L×3hr	1.07	0.58	0.83
	酸化剤処理30分+酵素2g/L×4hr	1.09	0.56	0.83
	酸化剤処理30分+酵素3g/L×2hr	0.96	0.68	0.82
	酸化剤処理30分+酵素3g/L×3hr	1.01	0.57	0.79

15 各表に示す結果から、次のことが明らかである。即ち、酸化剤処理のみでは十分な防縮性は得られないが、酸化剤処理と酵素処理とを組み合わせるときには、酵素の使用量および処理時間を適宜決定することにより、面積収縮率5%を遙かに下回りしかも強度低下も殆どなく、重量減少率も3%以下の、優れた防縮加工製品を収得できることが判る。しかも、本発明によれば、未処理布と差のない優れた風合い
20 を有する防縮加工製品が得られることが明らかとなった。本発明防縮加工製品は、ソフトで柔らかく白くなっており、染色性の向上も認められた。

また、得られた本発明処理布、未処理布および酸化剤処理のみを行った対照布における羊毛繊維の形状（乾燥状態）を電子顕微鏡にて観察した。その結果、未処理羊毛布では、羊毛繊維のスケールが明瞭に観察され、酸化剤処理のみを行った処理
25 布でも、ほぼ同様にスケールが観察されたのに対して、本発明処理布（収縮率0%）では、スケールが削られて丸みを帯びている様子が明らかとなった。尚、この例で得られた本発明処理布を、実施例1で得た本発明処理布と対比すると、この例で得られた処理布では羊毛繊維表面に若干の損傷が見られる場合があり、これが機械的強度を実施例1の場合に比して若干低下させるものと考えられる。

産業上の利用可能性

本発明によれば、機械的強度などの特性は実質的に失うことなく、十分に防縮加工された品質の良好な獣毛繊維製品を収得できる。この獣毛繊維製品は、家庭の洗濯機で洗濯可能であり、ドライクリーニングの必要はない。しかも、獣毛繊維本来
5 の柔軟な手触りを保有しており、その風合いが非常に優れたものである。

本発明方法は、環境に有害な化合物を排出するおそれはなく、減圧下での作業も必要なく、作業、装置、コストおよび製造時間の面でも実用的に優れたものである。

請 求 の 範 囲

1. 獣毛繊維の防縮加工方法であって、獣毛繊維をパルスコロナ処理するか又は非塩素系酸化剤を用いて酸化処理した後、ケラチン分解活性が70AKU以上であり且つケラチン分解活性に対するコラーゲン分解活性比が2以下およびケラチン分解活性に対するエラスチン分解活性比が4以下であるアルカリプロテアーゼを用いた酵素処理を行うことを特徴とする獣毛繊維の防縮加工方法。
2. 獣毛繊維をパルスコロナ処理した後、アルカリプロテアーゼを用いた酵素処理を行う請求項1に記載の獣毛繊維の防縮加工方法。
- 10 3. パルスコロナ処理が、常温下に、平均電解強度6～100kv/cm、パルス頻度10pps以上およびパルス幅0.1 μ s以上の条件で行われる請求項2に記載の防縮加工方法。
- 15 4. 獣毛繊維を非塩素系酸化剤による酸化処理した後、アルカリプロテアーゼを用いた酵素処理を行う請求項1に記載の獣毛繊維の防縮加工方法。
5. 非塩素系酸化剤が過酸化水素、過硫酸及びその塩並びにジクロロイソシアヌル酸塩からなる群から選ばれる少なくとも1種である請求項4に記載の方法。
- 20 6. 非塩素系酸化剤による酸化処理が、繊維1g当たり酸化剤2～4gを用いて、浴比1:15～25、温度30～60℃、pH4.0～4.5および時間1～6時間の条件で行われる請求項5に記載の方法。
- 25 7. アルカリプロテアーゼが、放線菌由来のものである請求項1に記載の防縮加工方法。
8. アルカリプロテアーゼが、ノカルディオプシス エスピー(Nocardiosis sp.) TOA-1株(FERM BP-08603)の産生するものである請求項7に記載の防縮加工方法。

9. アルカリプロテアーゼとの接触が、繊維1g当たり酵素力価300～1000 APUのアルカリプロテアーゼを用いて、浴比1:15～25、温度30～60℃、pH7～9.5および時間2～8時間の条件で行われる請求項1に記載の防縮加工方法。

5

10. 請求項1に記載の獣毛繊維の防縮加工方法に利用されるアルカリプロテアーゼであって、ケラチン分解活性が70AKU以上であり且つケラチン分解活性に対するコラーゲン分解活性比が2以下およびケラチン分解活性に対するエラスチン分解活性比が4以下であるアルカリプロテアーゼ。

10

11. ノカルディオプシス エスピー (Nocardiosis sp.) TOA-1株 (FERM BP-08603) の産生するものである請求項10に記載のアルカリプロテアーゼ。

12. 請求項1に記載の方法によって得られる防縮加工された獣毛繊維。

15

13. 請求項1に記載の方法によって得られる防縮加工された獣毛繊維を含む繊維製品。

1/3

SEQUENCE LISTING

<110> DAIWA KASEI K.K.

<120> Anti-felting finishing method for animal fiber

<130> P04-02

<150> JP 2003-29610

<151> 2003-02-06

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 564

<212> DNA

<213> Nocardiosis sp. TOA-1

<400> 1

gcc gac atc atc ggt ggc ctc gcc tac acc atg ggc gga cgc	42
Ala Asp Ile Ile Gly Gly Leu Ala Tyr Thr Met Gly Gly Arg	
1 5 10	
tgc tgc gtc ggc ttc gcg gcc acc aac gcc tcc ggc cag ccc	84
Cys Ser Val Gly Phe Ala Ala Thr Asn Ala Ser Gly Gln Pro	
15 20 25	
ggc ttc gtc acc gcc ggc cac tgc ggc agc gtg ggg acc cag	126
Gly Phe Val Thr Ala Gly His Cys Gly Ser Val Gly Thr Gln	
30 35 40	
gtc agc atc ggc aac ggc agg ggc gtc ttc gag cgc tcc gtc	168
Val Ser Ile Gly Asn Gly Arg Gly Val Phe Glu Arg Ser Val	
45 50 55	
ttc ccg ggc aac gac gcc gcc ttc gtc cgg ggc acg tcc aac	210
Phe Pro Gly Asn Asp Ala Ala Phe Val Arg Gly Thr Ser Asn	
60 65 70	
ttc acc ctg acc aac ctg gtc agc cgc tac aac agc ggc ggc	252
Phe Thr Leu Thr Asn Leu Val Ser Arg Tyr Asn Ser Gly Gly	
75 80	
tac gcc acc gtc tgc ggc tcc agc acg gcg ccc atc ggt tgc	294
Tyr Ala Thr Val Ser Gly Ser Ser Thr Ala Pro Ile Gly Ser	
85 90 95	
cag gtc tgc cgc tcc ggc tcc acc acc ggc tgg tac tgc ggc	336

2/3

Gln	Val	Cys	Arg	Ser	Gly	Ser	Thr	Thr	Gly	Trp	Tyr	Cys	Gly	
100						105					110			
acc	att	cag	gcc	cgc	aac	cag	acg	gtg	agc	tac	ccg	cag	ggc	378
Thr	Ile	Gln	Ala	Arg	Asn	Gln	Thr	Val	Ser	Tyr	Pro	Gln	Gly	
115						120					125			
acc	gtc	cac	agc	ctg	acc	cgg	acc	tcc	gtg	tgc	gcc	gag	ccc	420
Thr	Val	His	Ser	Leu	Thr	Arg	Thr	Ser	Val	Cys	Ala	Glu	Pro	
			130					135				140		
ggc	gac	tcc	gcg	ggc	tcg	ttc	atc	tcc	gga	acc	cag	gcc	cag	462
Gly	Asp	Ser	Ala	Gly	Ser	Phe	Ile	Ser	Gly	Thr	Gln	Ala	Gln	
				145				150						
ggc	gtg	acc	tcc	ggc	ggc	tcc	ggc	aac	tgc	cgc	acc	ggt	ggc	504
Gly	Val	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Gly	Asn	Cys	Arg	Thr	Gly	Gly	
155					160				165					
acg	acc	ttc	tac	cag	gag	gtc	aac	ccc	atg	ctc	aac	tcc	tgg	546
Thr	Thr	Phe	Tyr	Gln	Glu	Val	Asn	Pro	Met	Leu	Asn	Ser	Trp	
	170					175				180				
aac	ctg	cgt	ctg	cgc	acc									564
Asn	Leu	Arg	Leu	Arg	Thr									
		185			188									

<210> 2
<211> 188
<212> PRT
<213> Nocardiosis sp. TOA-1
<400> 2

Ala	Asp	Ile	Ile	Gly	Gly	Leu	Ala	Tyr	Thr	Met	Gly	Gly	Arg	
1				5				10						
Cys	Ser	Val	Gly	Phe	Ala	Ala	Thr	Asn	Ala	Ser	Gly	Gln	Pro	
15					20					25				
Gly	Phe	Val	Thr	Ala	Gly	His	Cys	Gly	Ser	Val	Gly	Thr	Gln	
30					35					40				
Val	Ser	Ile	Gly	Asn	Gly	Arg	Gly	Val	Phe	Glu	Arg	Ser	Val	
	45				50					55				
Phe	Pro	Gly	Asn	Asp	Ala	Ala	Phe	Val	Arg	Gly	Thr	Ser	Asn	
		60						65					70	

3/3

Phe Thr Leu Thr Asn Leu Val Ser Arg Tyr Asn Ser Gly Gly
75 80
Tyr Ala Thr Val Ser Gly Ser Ser Thr Ala Pro Ile Gly Ser
85 90 95
Gln Val Cys Arg Ser Gly Ser Thr Thr Gly Trp Tyr Cys Gly
100 105 110
Thr Ile Gln Ala Arg Asn Gln Thr Val Ser Tyr Pro Gln Gly
115 120 125
Thr Val His Ser Leu Thr Arg Thr Ser Val Cys Ala Glu Pro
130 135 140
Gly Asp Ser Ala Gly Ser Phe Ile Ser Gly Thr Gln Ala Gln
145 150
Gly Val Thr Ser Gly Gly Ser Gly Asn Cys Arg Thr Gly Gly
155 160 165
Thr Thr Phe Tyr Gln Glu Val Asn Pro Met Leu Asn Ser Trp
170 175 180
Asn Leu Arg Leu Arg Thr
185 188

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/001291

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ D06M16/00, D06M10/02, D06M11/130, C12N9/52, C12S3/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ D06M16/00, D06M10/02, D06M11/130, C12N9/52, C12S3/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2004	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Shinji Mitsuki, Purification and Some Properties of a Kerat inolytic Enzyme from an Alkaliphilic Nocardiosis sp. TOA-1, Biosci.Biotechnol. Biochem., 2002, Vol.66, No.1, pages 164 to 167	10, 11 1-13
X A	WO 01/58276 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), 16 August, 2001 (16.08.01), Claim 1 Claim 1 & WO 01/58276 A	10, 11 1-9, 12, 13
Y	JP 1-54471 B2 (Kurabo Industries Ltd.), 20 November, 1989 (20.11.89), Claims 5, 8; page 2, left column, lines 13 to 30; Page 2, right column, lines 32 to 38 & EP 134267 A1 & US 4533359 A1	1, 4-13

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
07 May, 2004 (07.05.04)

Date of mailing of the international search report
01 June, 2004 (01.06.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/001291

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2-502032 A (Schoeller Hardtrum AG.), 05 July, 1990 (05.07.90), Examples 4 to 8 & EP 344250 A1 & US 5529928 A1	1, 4-13
Y	JP 11-131365 A (Nippon Paint Co., Ltd.), 18 May, 1999 (18.05.99), Claim 1; Par. No. [0014] (Family: none)	1-3, 7-9, 12, 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/001291

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
 - a. type of material
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material
 - ☒ in written format
 - ☐ in computer readable form
 - c. time of filing/furnishing
 - ☒ contained in the international application as filed
 - ☐ filed together with the international application in computer readable form
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. D06M16/00、D06M10/02、C12N9/52
C12S3/14

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. D06M16/00、D06M10/02、D06M11/00~11/84、C12N9/52、
C12S3/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-2004年
日本国登録実用新案公報 1994-2004年
日本国実用新案登録公報 1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	Shinji Mitsuiki, Purification and Some Properties of a Kerat inolytic Enzyme from an Alkaliphilic Nocardiosis sp. TOA-1, Biosci. Biotechnol. Biochem., 2002, Vol.66, No.1, pages 164 -167	10, 11 1-13
	WO 01/58276 A (エフ. ホフマンロー ロシュ アー ゲー) 2001.08.16	
X A	請求項1 請求項1	10, 11 1-9,

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示す
もの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日
以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行
日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する
文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって
出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論
の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明
の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以
上の文献との、当業者にとって自明である組合せに
よって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07.05.2004

国際調査報告の発送日

01.6.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

山崎 利直

4S

3233

電話番号 03-3581-1101 内線 3430

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	& WO 01/58276 A	12, 13
Y	JP 1-54471 B2 (倉敷紡績株式会社) 1989. 11. 20 請求項5, 8、第2頁左欄第13行~第30行、第2頁右欄第32行~第38行 & EP 134267 A1 & US 4533359 A1	1, 4-13
Y	JP 2-502032 A (シェーラー ハルドトウルム アク チェンゲゼルシャフト) 1990. 07. 05 実施例4-8 & EP 344250 A1 & US 5529928 A1	1, 4-13
Y	JP 11-131365 A (日本ペイント株式会社) 1999. 05. 18 (ファミリーなし) 請求項1、【0014】	1-3, 7- 9, 12, 13

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列 (第 1 ページの 1. b の続き)

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際調査を行った。

a. タイプ ☒ 配列表

☐ 配列表に関連するテーブル

b. フォーマット ☒ 書面

☐ コンピュータ読み取り可能な形式

c. 提出時期 ☒ 出願時の国際出願に含まれる

☐ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された

☐ 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出された

2. ☐ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：